
西野賞受賞講演

上皮細胞における抗菌ペプチドの発現調節機構の解明

板東 美香

キーワード：上皮細胞，抗菌ペプチド，IL-1 α ，KGF，MAPK 経路

Regulation of Antimicrobial Peptide Expression in Human Keratinocytes

Mika BANDO

Abstract : Epithelial cells express antimicrobial peptides (AMPs) including calprotectin (S100A8/S100A9), β -defensin and lipocalin, which contribute to a host defense reaction in the innate immune system. However, the regulation of AMP expression is not well elucidated. Interleukin1- α (IL-1 α), an autonomous cytokine, regulates keratinocyte differentiation and also induces the expression of keratinocyte growth factor (KGF) in fibroblasts. It is reported that KGF stimulates the growth and differentiation of keratinocytes. I confirmed the expression of calprotectin in gingiva and skin by immunohistochemical staining, and determined the effect of IL-1 α and KGF on the expression of several AMPs in human keratinocytes cell line (HaCaT) and human fibroblast cell line (NB1RGB), and then clarified the regulatory mechanism of calprotectin expression induced by IL-1 α and KGF with the analyses of microarray, Northern blot, RT-PCR and Western blot. Immunohistochemical staining showed that calprotectin expressed in human normal gingiva and skin, and this expression increased in periodontitis gingivae and psoriasis skins. IL-1 α increased KGF mRNA expression in NB1RGB, and KGF up-regulated IL-1 α mRNA expression in HaCaT. Microarray analysis revealed that IL-1 α increased some AMPs, lipocalin 2 (LCN2), S100A8, S100A9 and secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI), showing more than 2-fold expressions in HaCaT. RT-PCR and Northern blot analysis revealed that IL-1 α increased mRNA expressions of S100A7, S100A8, S100A9, LCN2, SLPI, and β -defensin 2 (hBD-2) in HaCaT. On the other hand, KGF decreased the expression of S100A7, S100A8, and S100A9, and increased LCN2 and SLPI expressions. KGF did not affect hBD-2 expression. When the inhibitors of mitogen-activated protein kinase (MAPK), including p38, c-Jun N-terminal kinase, and extracellular signal-regulated kinase (ERK) were added to HaCaT, p38 inhibitor suppressed the IL-1 α -up-regulated S100A8/S100A9 expression and ERK inhibitor suppressed the KGF-down-regulated S100A8/S100A9 expression. These results indicate that some AMP expressions are regulated by IL-1 α and KGF in human keratinocytes and that IL-1 α up-regulates and KGF down-regulates S100A8/S100A9 genes through MAPK pathway in keratinocytes.

1. 生体における抗菌ペプチドの役割

感染は、微生物が皮膚または粘膜などの上皮に接触することから始まる。その後微生物は感染巣を形成するために上皮を通り抜けて組織に侵入して増殖するという過程を経て病気（感染症）を引き起こす。感染症を引き起こす微生物（細菌、真菌、ウイルス、原虫、寄生虫）は自然免疫機構にもとづく上皮の細胞間接着による物理的防御、抗菌ペプチドのような生理的防御、あるいはマクロファージなどの貪食細胞による食作用によって排除されるが、この機構をすり抜けた特定の微生物に対しては抗体を産生する適応免疫機構が働く。このように自然免疫は、最前線の生体防御機構で微生物と接触すると直ちに作動して感染巣の形成を防止し、その後も適応免疫を誘導することにより、感染を抑制するという重要な役割を果たしている¹⁻⁴⁾。自然免疫において重要な役割を果たすのが抗菌ペプチドであり、calprotectin, β -defensin, lactoferrin, secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) や lysozyme など500種類以上存在している⁵⁻⁷⁾。抗菌ペプチドは、サイズやアミノ酸配列、蛋白の構造や抗菌作用などによって分類され、細菌細胞膜を破壊したり、細菌の増殖に必要な亜鉛や鉄などの栄養源を奪ったり、酵素を産生したりすることにより、グラム陽性菌、グラム陰性菌、ウイルスや真菌などに対して幅広い抗菌スペクトルをもち、多くの生物種の生体防御を担っている⁵⁾。たとえば、S100A8 と S100A9 の2つの蛋白の複合体から構成される calprotectin⁸⁾ は、表皮、粘膜の上皮組織だけでなく、血漿、歯肉溝滲出液、唾液および関節腔滑液にも局在している^{6, 9)}。calprotectin は、上皮細胞、好中球および単球／マクロファージなどにより産生され^{10, 11)}、そのレベルは乾癬、歯周炎、リウマチ性関節炎、肺炎あるいは潰瘍性大腸炎などの炎症性疾患や表皮および粘膜の創傷治癒部位で上昇する¹²⁻¹⁶⁾。このペプチドは亜鉛のキレート作用を有し、微生物の増殖や細胞への付着を抑制することにより抗菌性を示す¹⁷⁾。Nisapakultorn らは¹⁸⁾、口腔内上皮に calprotectin を高発現させると、歯周病原細菌である *P. gingivalis* の上皮への接着や増殖が抑制されるということを明らかにした。 β -defensin は、主に皮膚や呼吸器系の上皮で産生される陽性荷電ペプチドであり、陰性荷電の細菌細胞膜を破壊することにより殺菌性を示す⁵⁾。また、lactoferrin は、唾液や涙などの分泌液に含まれ、細菌増殖に必要な栄養源である鉄と結合することにより抗菌性を示し¹⁹⁾、SLPI は病原性因子セリンプロテアーゼを阻害して抗菌作用を示す²⁰⁾。これらのことから感染防御の初期段階で働き、自然免疫システムにおいて広い抗菌スペクトルを持つ抗菌ペプチドが、歯周病を含む感染症の予防や治療において注目されている^{5, 6)}。

2. 上皮組織に発現する抗菌ペプチド

抗菌ペプチドの上皮細胞における発現は組織やその

状態によって異なり、その調節機構は複雑であり未だ不明な点が多い。たとえば、 β -defensin 1 は健康な皮膚に多く発現するが、 β -defensin 2 および β -defensin 3 は乾癬などの炎症を伴う皮膚での発現が著しい^{20, 21, 22)}。また、calprotectin (S100A8/S100A9) は、健康な歯肉や膺などの粘膜上皮で発現し、炎症を伴う乾癬皮膚や歯肉組織で、その発現が増加する^{15, 23, 24)}。歯周炎において calprotectin は、歯肉上皮ばかりでなく炎症性細胞の浸潤した結合組織においても発現が増加している²⁵⁾。一方、SLPI のように健康な皮膚に多く発現する場合もあり²⁰⁾、ある種の抗菌ペプチドは健康な上皮細胞で恒常的に発現し、ある種の抗菌ペプチドは interleukin-1 β (IL-1 β)、tumor necrosis factor- α (TNF- α) や細菌の lipopolysaccharide (LPS) などの炎症性因子によりそのレベルが著しく増加する^{20, 26-32)}。さらに、上皮細胞において分化促進因子であるカルシウムや interleukin-1 α (IL-1 α) が β -defensin 2 の発現を増加させ、その IL-1 α による発現の増加には mitogen-activated protein kinase (MAPK) 経路が関与するということが³⁰⁻³⁴⁾、および歯肉上皮細胞において、カルシウムと IL-1 α が細胞の分化を促進し、calprotectin の発現を増加させ、反対に上皮の分化抑制因子である transforming growth factor- β (TGF- β) やレチノイン酸は、発現を抑制することが明らかにされている³⁵⁾。また、皮膚において β -defensin の発現が phorbol-myristate-acetate (PMA) のような上皮細胞分化促進因子により増加し、レチノイン酸によって減少するという報告³¹⁾ や、adrenomedullin がカルシウムとともに上皮細胞の分化を調節するという報告³⁶⁾ もあり、これらは上皮細胞の分化が抗菌ペプチドの発現と深く関係していることを示している。

3. 上皮細胞分化調節因子による抗菌ペプチドの発現変化

上皮細胞が増殖し分化する際に、上皮細胞および線維芽細胞で産生される種々のサイトカインや増殖因子による調節を経て、上皮組織の恒常性が維持される³⁷⁾。IL-1 α は分子量 17 kDa のサイトカインで³⁸⁾、炎症部位において TNF- α や細菌などの刺激により単球、マクロファージにより産生され、急性炎症反応、免疫反応の促進、骨代謝など多様な機能を示す³⁹⁾。非炎症状態の上皮細胞においても恒常的に産生され、線維芽細胞の増殖や上皮細胞の分化を調節する⁴⁰⁻⁴²⁾。また、keratinocyte growth factor (KGF) はヘパリン結合性線維芽細胞増殖因子ファミリーに属し、別名 fibroblast growth factor7 (FGF7) と呼ばれている。KGF は、線維芽細胞、血管内皮細胞や平滑筋細胞などの間葉系由来の細胞によって産生され、上皮細胞の増殖、遊走や分化に関与すると言われる⁴³⁻⁴⁵⁾。その他、上皮細胞と線維芽細胞で産生される TGF- α は上皮細胞の初期の段階の分化を促進するが⁴⁶⁾、線維芽細胞で産生される TGF- β は上皮細胞の増

殖・分化を抑制する⁴⁷⁾。このように、種々の因子が上皮細胞の増殖・分化を促進したり、抑制したりすることによって上皮細胞の恒常性が維持されていることを示す多くの報告がある。なかでも、IL-1 α とKGFはお互いにその産生細胞である上皮細胞と線維芽細胞の増殖を調節することが知られているが^{46, 48)}、最近の我々の研究によりIL-1 α が線維芽細胞株におけるKGFの発現を増加させ、一方でKGFは上皮細胞株におけるIL-1 α の発現を増加させることが示された⁴⁹⁾。これらの結果は、IL-1 α とKGFが上皮—結合組織の相互作用を介して上皮の恒常性の維持に関与していることを強く示唆するものである。

我々は、上皮細胞分化促進因子であるIL-1 α やKGFが、上皮細胞においていくつかの抗菌ペプチドの発現に対して異なる作用を示すことも明らかにした^{49, 50)}。ヒト皮膚由来上皮細胞株 (HaCaT細胞) に発現する18個の抗菌ペプチドのうち、IL-1 α により6個の抗菌ペプチド (lipocalin 2, S100A9, S100A8, S100A7, SLPI, β -defensin 2) の発現が増加した⁵⁰⁾。IL-1 α により約6倍の発現増加を示した抗菌ペプチドはlipocalin 2であった。lipocalin 2は涙腺より分泌される主要な涙の構成成分であるが、上皮細胞におけるその発現はIL-1 β , TGF- α , insulin-like growth factor Iにより増加する²⁹⁾。細菌はシデロフォアを合成して自身のために鉄成分を宿主から獲得するが、lipocalin 2は鉄を含むシデロフォアと結合することによって細菌増殖を抑制する⁵¹⁾。約4倍の増加を示したS100A8とS100A9は、ヘテロな複合体を形成することによりcalprotectinを構成している⁸⁾。calprotectinは、亜鉛のキレート作用により、グラム陽性菌、グラム陰性菌、真菌に対して幅広い抗菌スペクトルを示し、健康状態の菌肉や口腔粘膜の上皮においても発現し、正常な上皮の感染防御にも役割を果たしている^{6, 17)}。S100A7は別名psoriasinと呼ばれ、S100A8とS100A9と同じくカルシウム結合蛋白に属し、健康な皮膚とくに頭皮や手足に発現が高く、分化が亢進する乾癬罹患部位や創傷治療部位でも発現が高い⁵²⁾。亜鉛のキレート作用による抗菌性を示し、*Escherichia coli* (*E. coli*) のようなグラム陰性菌の増殖を抑制する⁵³⁾。SLPIは上皮細胞、好中球およびマクロファージで産生され、唾液、涙などの体液や粘液中に存在する。SLPIはセリンプロテアーゼを阻害することによる抗菌性を示し、グラム陽性菌、グラム陰性菌や真菌だけでなくヒト免疫不全症候群ウイルスを含むウイルスに対しても作用する^{20, 54-57)}。また、ヒト皮膚におけるSLPIの発現はIL-1 β やTNF- α のような炎症性サイトカインやTGF- β のような増殖因子により増加する²⁹⁾。defensinは主に上皮細胞に発現する陽性荷電の抗菌ペプチドであり、細菌の細胞膜を破壊することにより、グラム陽性菌、グラム陰性菌、*Candida*などに抗菌性を示す⁵⁾。 β -defensinにはいくつかの種類が存在するが、HaCaT細胞においては、 β -defensin 1 (DEFB1),

β -defensin 2 (DEFB4), β -defensin 3 (DEFB103A), β -defensin 123 (DEFB123) の4種類の β -defensinが発現しており、そのうち β -defensin 2のみIL-1 α によりその遺伝子発現が増加した⁵⁰⁾。 β -defensin 2は乾癬罹患皮膚や歯周病罹患菌肉上皮などの炎症性疾患の上皮細胞で発現が高く²⁸⁾、IL-1 β , TNF- α , 細菌のLPSなどの炎症性サイトカインや細菌刺激によって増加する^{20, 31)}。 β -defensin 3も β -defensin 2と同じように皮膚や口腔粘膜で発現が認められ、炎症性疾患で発現が高く、炎症性サイトカインであるTNF- α , interferon- γ (IFN- γ) でその発現が誘導される²²⁾。 β -defensin 3は、黄色ブドウ球菌やバンコマイシン抵抗性菌にも抗菌性を示すがその作用機序はまだ不明である²⁰⁾。 β -defensin 1は健康な組織で発現し、カルシウムによって分化させた上皮細胞で発現が増加し、 β -defensin 2や β -defensin 3と異なりIL-1 β やTNF- α などの炎症性サイトカインには反応しないため、炎症を伴わない健康な生体防御に関与すると言われている^{6, 20)}。cystatin C, adrenomedullin, RNase 7, mucin 5, β -defensin 3, hepcidin antimicrobial peptide, β -defensin 1, azurocidin 1などの12個の抗菌ペプチドの発現にはIL-1 α の影響が認められなかった⁵⁰⁾。

一方、KGFは抗菌ペプチドの発現に対してその種類によって異なった影響を示した。すなわち、lipocalin 2とSLPIに対してはIL-1 α と同様にその発現を増加し、S100A7, S100A8およびS100A9の発現は減少し、さらに β -defensin 2の発現には影響を及ぼさなかった⁴⁹⁾。また、上皮細胞と線維芽細胞を共培養すると単独培養した上皮細胞と比較して、線維芽細胞と共培養した上皮細胞でcalprotectin遺伝子の発現の減少が認められた⁴⁹⁾ことから、生体内においても抗菌ペプチド発現に対して線維芽細胞で産生されるKGFがIL-1 α と相反する作用を示していることが考えられる。これらの研究結果から、抗菌ペプチドの発現が上皮—結合組織間の相互作用により調節されており、この調節機構にIL-1 α およびKGFが深く関与していることが示唆された。以上のように、複数の抗菌ペプチドの発現調節は複雑な制御を受けているが、この制御は生体を多くの微生物の感染から防御するため、つまり、ある刺激やストレスなどにより、数個の抗菌ペプチドの発現が減少しても他のいくつかの抗菌ペプチドがそれらを補うように増加するといったシステムが働いていると考えられる。

4. calprotectin 発現調節への MAPK 経路の関与

IL-1 α とKGFのシグナル経路については、一般的にIL-1は、IL-1受容体を介してMAPK経路やinhibitor of NF- κ B (I- κ B) のリン酸化キナーゼ (IKK) に作用する経路を活性化することが知られている^{39, 58)}。また、KGFはKGF受容体を介して、MAPK経路やAkt/PKB経路を活性化する^{59, 60)}。IL-1とKGFに共通するシグナル経路であるMAPK経路は細胞増殖や分化を制御する細胞

内シグナル伝達の主要経路であり, MAPK を活性化する MAPKK (MAPK kinase) とさらにそれを活性化する MAPKKK (MAPKK kinase) の3つのキナーゼで構成されている。MAPK には大きく分けて p38, JNK および ERK の3つの経路が存在しており, それぞれがリン酸化されることにより p38 は ATF2や MEF2, ERK は ELK や CREB, JNK は c-Jun などの転写因子を活性化する^{61, 62)}。これまでに Szabowski ら⁶³⁾ は, c-Jun ノックアウトマウスを用いて, IL-1 α による上皮細胞の増殖・分化に JNK が関与することを報告し, また, Moon ら³⁴⁾ はヒト中耳粘膜において IL-1 α が ERK を介して抗菌ペプチドの β -defensin の発現を調節することを報告している。最近の研究により, IL-1 α は p38 のリン酸化の促進を介して S100A8 および S100A9 遺伝子の発現を増加することが明らかとなった。一方, KGF についてはこれまでに抗菌ペプチド発現に対する影響を調べた研究報告はないが, Sherma ら⁴⁵⁾ はウサギ角膜上皮において, KGF が p38 を活性化することにより上皮細胞の遊走を誘導すると同時に, ERK を活性化することにより上皮細胞の増殖を促進することを報告している。我々は, KGF による S100A8 および S100A9 の発現の減少が ERK のリン酸化を介して起こることを見出した⁵⁰⁾。以上のことから, IL-1 α だけでなく KGF による上皮細胞の増殖や抗菌ペプチドの発現調節にも MAPK 経路が関与することを示唆している。これらの因子の作用機序に関連する MAPK 経路の違いについては, その原因は明らかではないが, 抗菌ペプチド種や上皮の細胞種の違いにより, 関与する経路が異なることが推察される。

生体における抗菌ペプチドの発現調節機構については, いまだ不明な点が多く, 今後 calprotectin 発現に関与する MAPK 経路の下流の転写因子の解析やその他の抗菌ペプチドの発現調節機構の解明あるいは他の上皮細胞の恒常性を保つ因子が抗菌ペプチド発現に与える影響を調べる必要があると考えられる。これらのアプローチを通して, 自然免疫機構の重要な役割を果たす上皮細胞における複雑な抗菌ペプチドの発現調節機構を解明することができれば, 自然免疫賦活化による歯周病を含む感染症の新しい予防・治療法の開発に繋がると期待される。

参考文献

- 1) Krisanaprakornkit S, Kimball JR, Weinberg A, Darveau RP, Bainbridge BW and Dale BA: Inducible expression of human β -defensin 2 by *Fusobacterium nucleatum* in oral epithelial cells: multiple signaling pathways and role of commensal bacteria in innate immunity and epithelial barrier. *Infect Immun* 68, 2907-2915(2000)
- 2) Ouellette AJ: IV. Paneth cell antimicrobial peptides and the biology of the mucosal barrier. *Am J Physiol* 277, 257-261(1999)
- 3) Podolsky DK: Mucosal immunity and inflammation. V. Innate mechanisms of mucosal defense and repair: the best offense is a good defense. *Am J Physiol* 277, 495-499(1999)
- 4) Muller CA, Autenrieth IB and Peschel A: Innate defenses of the intestinal epithelial barrier. *Cell Mol Life Sci* 62, 1297-1307(2005)
- 5) Robert E, Hancock W and Scott MG: The role of antimicrobial peptides in animal defenses. *PNAS* 97, 8856-8861(2000)
- 6) Dale BA and Fredericks LP: Antimicrobial peptides in the oral environment: expression and function in health and disease. *Curr Issues Mol Biol* 7, 119-133(2005)
- 7) Hiemstra PS: Epithelial antimicrobial peptides and inflammation. *Paediatric Respiratory Reviews* 2,306-310(2001)
- 8) Yui S, Nakatani Y and Mikami M: Calprotectin (S100A8/A9), an inflammatory protein complex formed with neutrophils with broad apoptosis-inducing activity. *Biol Pharm Bull* 26, 753-760(2003)
- 9) Kido J, Nakamura T, Kido R, Ohishi K, Yamauchi N, Kataoka M and Nagata T: Calprotectin in gingival crevicular fluid correlates with clinical and biochemical markers of periodontal disease. *J Clin Periodontol* 26, 653-657(1999)
- 10) Kido J, Kido R, Suryono, Kataoka M, Fagerhol MK and Nagata T: Calprotectin release from human neutrophils is induced by *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide via the CD-14-Toll-like receptor-nuclear factor κ B pathway. *J Periodont Res* 38, 557-563(2003)
- 11) Suryono, Kido J, Hayashi N, Kataoka M and Nagata T: Calprotectin expression in human monocytes: Induction by *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide, tumor necrosis Factor- α , and Interleukin-1 β . *J Periodontol* 76, 437-442(2005)
- 12) Sander J, Fagerhol MK, Bakken JS and Dale I: Plasma levels of the leucocyte L1 protein in febrile conditions: Relation to aetiology, number of leukocytes in blood, blood sedimentation reaction and C-reactive protein. *Scand J Clin Lab Invest* 44, 357-362(1984)
- 13) Berntzen HB, Munthe E and Fagerhol MK: A longitudinal study of the leukocyte protein L1 as an indicator of disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 16, 1416-1420(1989)
- 14) Fagerhol MK: Calprotectin, a faecal marker of organic gastrointestinal abnormality. *Lancet* 356, 1783-1784(2000)
- 15) Benoit S, Toksoy A, Ahlmann M, Schmidt M, Sunderkotter C, Foell D, Pasparakis M, Roth J and Goebeler M: Elevated serum levels of calcium-binding

- S100 proteins A8 and A9 reflect disease activity and abnormal differentiation of keratinocytes in psoriasis. *Br J Dermatol* 155, 62-66(2006)
- 16) Nakamura T, Kido J, Kido R, Ohishi K, Yamauchi N, Kataoka M and Nagata T: The association of calprotectin level in gingival crevicular fluid with gingival index and the activities of collagenase and aspartate aminotransferase in adult periodontitis patients. *J Periodontol* 71, 361-367(2000)
- 17) Clohessy PA and Golden BE: Calprotectin-mediated zinc chelation as a bioatatic mechanism in host defense. *Scand J Immunol* 42, 551-556(1995)
- 18) Nisapakultorn K, Ross KF and Herzberg MC: Calprotectin expression in vitro by oral epithelial cells confers resistance to infection by *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun* 69, 4242-4247(2001)
- 19) Arnold RR, Brewer M and Gauthier JJ: Bactericidal activity of human lactoferrin: sensitivity of a variety of organisms. *Infect Immun* 28, 893-898(1980)
- 20) Harder J and Schröder JM: Antimicrobial peptides in human skin. *Chem Immunol Allergy* 86, 22-41(2005)
- 21) Sørensen OE, Thapa DR, Rosenthal A, Liu A, Roberts AA and Ganz T: Differential regulation of β -defensin expression in human skin by microbial stimuli. *J Immunol* 174, 4870-4879(2005)
- 22) Harder J, Bartels J, Christophers E and Schröder JM: Isolation and characterization of human β -defensin-3, a novel human inducible peptide antibiotic. *J Biol Chem* 276, 5707-5713(2001)
- 23) Ross KF and Herzberg MC: Calprotectin expression by gingival epithelial cells. *Infect Immun* 69, 3248-3254(2001)
- 24) Eversole LR, Miyasaki KT and Christensen RE: The distribution of the antimicrobial protein, calprotectin, in oral keratinocytes. *Arch Oral Biol* 37, 963-968(1992)
- 25) Suryono, Kido J, Hayashi N, Kataoka M and Nagata T: Effect of *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide, tumor necrosis factor- α and interleukin-1 β on calprotectin release in human monocytes. *J Periodontol* 74, 1719-1724(2003)
- 26) Joly S, Organ CC, Johnson GK, McCray Jr. BP and Guthmiller JM: Correlation between β -defensin expression and induction profiles in gingival keratinocytes. *Mol Immunol* 42, 1073-1084(2005)
- 27) Harder J, Bartels J, Christophers E and Schröder JM: A peptide antibiotic from human skin. *Nature* 381, 387(1997)
- 28) Huh WK, Oono T, Shirafuji Y, Akiyama H, Arata J, Sakaguchi M, Huh NH and Iwatsuki K: Dynamic alteration of human beta-defensin 2 localization from cytoplasm to intercellular space in psoriatic skin. *J Mol Med* 80, 678-684(2002)
- 29) Sørensen OE, Cowland JB, Theilgaard-Monch K, Liu L, Ganz T and Borregaard N: Wound healing and expression of antimicrobial peptides/polypeptides in human keratinocytes, a consequence of common growth factors. *J Immunol* 170, 5583-5589(2003)
- 30) Liu AY, Destoumieux D, Wong AV, Park CH, Valore EV, Liu L and Ganz T: Human β -defensin-2 production in keratinocytes is regulated by interleukin-1, bacteria, and the state of differentiation. *J Invest Dermatol* 118, 275-281(2002)
- 31) Harder J, Meyer-Hoffert U, Wehkamp K, Schwichtenberg L and Schröder JM: Differential gene induction of human β -defensins (hBD-1, -2, -3, and -4) in keratinocytes is inhibited by retinoic acid. *J Invest Dermatol* 123, 522-529(2004)
- 32) Mørk G, Schjerven H, Mangschau L, Søyland E, Brandtzaeg P: Proinflammatory cytokines upregulate expression of calprotectin (L1 protein, MRP-8/MRP-14) in cultured human keratinocytes. *Br J Dermatol* 149, 484-491(2003)
- 33) Parent I, Reymermier C, Guezennec A, Branka JE, Guesnet J, Perrier E, Dezutter-Dambuyant C, Schmitt D and Viac J: Calcium triggers β -defensin (hBD-2 and hBD3) and chemokine macrophage inflammatory protein-3 α (MIP-3 α /CCL20) expression in monolayers of activated human keratinocytes. *Exp Dermatol* 12, 755-760(2003)
- 34) Moon SK, Lee HY, Li JD, Nagura M, Kang SH, Chun YM, Linthicum FH, Ganz T, Andalibi A and Lim DJ: Activation of a Src-dependent Raf-MEK1/2-ERK signaling pathway is required for IL-1 α -induced upregulation of β -defensin 2 in human middle ear epithelial cells. *Biochimica et Biophysica Acta* 1590, 41-51(2002)
- 35) Hayashi N, Kido J, Suryono, Kido R, Wada C, Kataoka M, Shinohara Y and Nagata T: Regulation of calprotectin expression by IL-1 α and TGF- β in human gingival keratinocytes. *J Periodont Res* 42, 1-7(2007)
- 36) Pleguezuelos O and Kapas S: Differentiation of the HaCaT keratinocyte cell line: modulation by adrenomedullin. *Brit J Dermatol* 154, 602-608(2006)
- 37) Fuchs E: Epidermal Differentiation: The Bare Essentials. *J Cell Biol* 111, 2807-2814(1990)
- 38) Dinarello CA: Interleukin-1. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 8, 253-265(1997)
- 39) Boch JA, Wara-aswapati N and Auron PE: Interleukin 1 signal transduction-current concepts and relevance to periodontitis. *J Dent Res* 80, 400-407(2001)

- 40) Eller MS, Yaar M, Ostrom K, Harkness DD and Gilchrist BA: A role for interleukin-1 in epidermal differentiation: regulation by expression of functional versus decoy receptors. *J Cell Sci* 108, 2741-2746(1995)
- 41) Corradi A, Franzi AT and Rubartelli A: Synthesis and secretion of interleukin-1 α and interleukin-1 receptor antagonist during differentiation of cultured keratinocytes. *Exp Cell Res* 217, 355-362(1995)
- 42) Angel Pand Szabowski A: Function of AP-1 target genes in mesenchymal-epithelial cross-talk in skin. *Biochem Pharma* 64, 949-956(2002)
- 43) Rubin JS, Bottaro DP, Chedid M, Miki T, Ron D, Cheon HG, Taylor WG, Fortney E, Sakata H, Finch PW and LaRochelle WJ: Keratinocyte growth factor. *Cell Biol International* 19, 5(1995)
- 44) Keller U, Krampert M, Kumin K, Braun S and Werner S: Keratinocyte growth factor: effects on keratinocytes and mechanisms of action. *Eur J Cell Biol* 83, 607-612(2004)
- 45) Sherma GD, He J and Bazan HEP: p38 and ERK1/2 coordinate cellular migration and proliferation in epithelial wound healing. *J Biol Chem* 278, 21989-21997(2003)
- 46) Szabowski NM, Starker A and Fusenig NE: Epithelial tissue regeneration and stromal interaction in HaCaT cells is initiated by TGF- α . *J Cell Sci* 116, 2937-2948(2003)
- 47) Dahler AL, Cavanagh LL and Saunderson NA: Suppression of keratinocyte growth and differentiation by transforming growth factor β 1 involves multiple signaling pathways. *J Invest Dermatol* 116, 226-274(2001)
- 48) Szabowski NM, Shimotoyodome A and Fusenig NE: Keratinocyte growth regulation in fibroblast cocultures via a double paracrine mechanism. *J Cell Sci* 112, 1843-1853(1999)
- 49) Bando M, Hiroshima Y, Kataoka M, M.C. Herzberg, K.F. Ross, Shinohara Y, Yamamoto T, Nagata T and Kido J: Modulation of calprotectin in human keratinocytes by keratinocyte growth factor and interleukin-1 α . *Immunol Cell Biol* 88, 328-333 (2010)
- 50) Bando M, Hiroshima Y, Kataoka M, Shinohara Y, Mark C Herzberg, Karen F Ross, Nagata T and Kido J : Interleukin-1 α regulates antimicrobial peptide expression in human keratinocytes. *Immunol Cell Biol* 85, 532-537(2007)
- 51) Flo TH, Smith KD, Sato S, Rodriguez DJ, Holmes MA, Strong RK, Akira S and Aderem A: Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. *Nature* 432, 917-921(2004)
- 52) Madsen P, Rasmussen HH, Leffers H, Honore B, Dejgaard K, Olsen E: Molecular cloning, occurrence, and expression of a novel partially secreted protein 'psoriasin' that is highly up-regulated in psoriatic skin. *J Invest Dermatol* 97, 701-712(1991)
- 53) Schröder JM and Harder J: Antimicrobial skin peptides and proteins. *Cell Mol Life Sci* 63, 469-486(2006)
- 54) Mcneely TB, Dealy M, Dripps DJ, Orenstein JM, Eisenberg SP and Wahl SM: Secretory leukocyte protease inhibitor: a human saliva protein exhibiting anti-human immunodeficiency virus 1 activity *in Vitro*. *J Clin Invest* 96, 456-464(1995)
- 55) Jana NK, Gray LR and Shugars DC: Human immunodeficiency virus type 1 stimulates the expression and production of secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) in oral epithelial cells: a role for SLPI in innate mucosal immunity. *J Virol* 79, 6432-6440(2005)
- 56) Herzberg MC, Weinberg A and Wahl SM: The oral epithelial cell and first encounters with HIV-1. *Adv Dent Res* 19, 158-166(2006)
- 57) Moutsopoulos NM, Greenwell-Wild T and Wahl SM: Differential mucosal susceptibility in HIV-1 transmission and infection. *Adv Dent Res* 19, 52-56(2006)
- 58) Schiller M, Bohm M, Dennler S, Ehrchen JM and Mauviel A: Mitogen- and stress-activated protein kinase 1 is critical for interleukin-1-induced, CREB-mediated, *c-fos* gene expression in keratinocytes. *Oncogene* 25, 4449-4457(2006)
- 59) Ray P: Protection of epithelial cells by keratinocyte growth factor signaling. *Proc Am Thorac Soc* 2, 221-225(2005)
- 60) Lotti LV, Rotolo S, Francescangeli F, Frati L, Torrisi MR and Marchese C: AKT and MAPK signaling in KGF-treated and UVB-exposed human epidermal cells. *J Cell Physiol* 212, 633-642(2007)
- 61) Schindler JF, Monahan JB and Smith WG: p38 pathway kinases as anti-inflammatory drug targets. *J Dent Res* 86, 800-811(2007)
- 62) Zhang Y and Dong C: Regulatory mechanisms of mitogen-activated kinase signaling. *Cell Mol Life Sci* (2007)
- 63) Szabowski A, Szabowski NM, Andrecht S, Kolbus A, Kistner MS, Fusenig NE and Angel P: c-Jun and JunB antagonistically control cytokine-regulated mesenchymal-epidermal interaction in skin. *Cell* 103, 745-755(2000)